

蛇足石杉新碱的结构鉴定

袁珊琴¹, 赵毅民^{1*}, 冯 锐²

(军事医学科学院 1. 毒物药物研究所, 2. 仪器分析中心, 北京 100850)

摘要: 目的 研究石杉科植物蛇足石杉 *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev. 的生物碱成分。方法 用各种色谱技术进行分离纯化, 经衍生物制备和光谱数据分析鉴定其结构。结果和结论 从蛇足石杉中分离得到一新的 faucettimane 型生物碱, 命名为蛇足石杉新碱(neohuperzinine)。

关键词: 蛇足石杉; 蛇足石杉新碱; faucettimane 型生物碱

中图分类号: R284.1; R284.2 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2002)12 - 0946 - 04

蛇足石杉 *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev. 为石杉科石杉属植物, 又名蛇足草、千层塔。民间主治痈疔肿毒、跌打损伤等。自从该植物和同科植物华南马尾杉中分得一个很强的胆碱酯酶抑制剂福定碱即石杉碱甲^[1]以来, 作者曾从蛇足石杉中分得 10 余个生物碱, 其中 2 个为新成分^[2,3], 另 2 个有较好的胆碱酯酶抑制作用^[4,5]。近期我们又分得 1 个生物碱单体(I), 经光谱数据和衍生物的制备表明, I 为 1 个新的 faucettimane 型生物碱, 命名为蛇足石杉新碱(neohuperzinine), 其药理活性正在研究中。

化合物 I 无色针状结晶(CHCl_3 - Me_2CO), 分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_3$, 分子量 277.1676。 $[\alpha]_{\text{D}}^{22}$ - 48.2° (c 0.1037, EtOH)。 IR(KBr) cm^{-1} (3 540, 1 720) 表明分子中有羟基和饱和五元环上的羰基。 UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm: 201 ($\log \epsilon$ 3.70) 有吸收。 $^1\text{HNMR}$ (CHCl_3) 显示 23 个氢, 其中 δ 0.88 (3H, d, $J=6$) 为叔甲基信号。低场只显示 1 个烯属质子信号(δ 5.96, 1H, t, $J=4$) , 提示分子内有 1 个一端为双取代的双键。 I·HCl 的 $^1\text{HNMR}$ (D_2O) 显示 21 个氢, 表明分子内有 2 个活泼氢被交换。 $^{13}\text{CNMR}$ 测得 16 个碳, 其中 3 个为 SP^2 碳, 表明分子中除羰基(δ 209.67) 外, 另含 1 个双键。结合分子式求得其不饱和度为 6, 推定该分子为四环结构。高分辨 MS 测得其分子离子和主要碎片离子有 277 (M^+ , $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_3$, 31), 260 ($\text{M}^+ - 17$, 100), 248 (11), 246 (47), 230 (14), 218 (14), 150 (2), 149 (10), 123 (12), 122 (2) 等。根据主要碎片离子 150, 123, 122 等

推测, 其基本骨架与 serratinine 及 phlegmariurine A, B 和 C^[6-8]相似。据文献^[9]报道, 将石松生物碱按环的结构进行分类, 与 serratinine 基本骨架相近的 C_{16}N 的结构类型有 4 种: 即 faucettimane 型(A), faucettidane 型(B), serrattinane 型(C) 及 magellane 型(D), 其区别仅为分子中 N 的连接方式不同。其中, D 型结构含 N-CH_3 , 显然与 I 不同; A, B, C 3 种结构可以互相转化^[9,10], 但只有 faucettimane (A 型) 的结构因具跨环效应而存在互变异构现象(氨基酮式及甲醇胺式)^[9,11,12]。为判定 I 是否具有跨环作用, 作者测定了 I 的游离碱和盐酸盐两种状态下的 IR 光谱。游离碱的 IR(KBr) 中显示 1 个羰基信号(1 720 cm^{-1}); 而 I·HCl 的 IR 光谱中出现了 2 个羰基(1 720 和 1 705 cm^{-1}) 信号(图 1); 提示 I 存在着互变异构现象, 为 faucettidane (A 型) 结构, 即 I 的游离碱为四环结构的甲醇胺式, 而 I·HCl 则为三环结构的氨基酮式。

I 分子内的双键位置可根据该分子中能形成一端为双取代双键的 SP^3 叔碳的环境来推定。该分子中能形成一端为双取代双键的 SP^3 叔碳有 3 个, 即 C_{15} , C_7 和 C_4 。如果双键位于 C_{15} 或 C_7 位, 则烯属质子只能形成单峰或双峰。根据 $^1\text{HNMR}$ δ 5.94 (1H, t, $J=4$ Hz) 信号表明, 只有双键位于 $\text{C}_4 = \text{C}_3$ 位, 才能使 C_3 位的烯属质子与 C_2 位 SP^3 仲碳质子偶合, 形成三重峰或多重峰。因此, 双键位置应位于 $\text{C}_4 = \text{C}_3$ 位。此质子的信号可以由类似结构 lycophlegmarine 中 3-H 烯属质子信号加以证实^[13,14]。从 IR 显示信号(1 720 cm^{-1}) 表明, 羰基必定在五元环上, 根据 IR 中无 α, β -不饱和羰基吸收以及 UV 中无 π 吸收带推

收稿日期: 2002-01-30.

* 通讯作者 Tel: (010)66931648, Fax: (010)68211656,

E-mail: Zhaoyim@nic.bmi.ac.cn

定, I 的五元环碳基不可能在 C₅ 位上, 因此应定于 C₆ 位。进而, 从¹H NMR 中连氧氢信号 δ 3.73 (1H, br.s, W_{1/2} = 7 Hz, >CH-OH) 表明, 羟基取代的碳应为 sp³ 仲碳, 与其相邻的碳均应为季碳, 因此, 推定羟基的连接位置为 C₅ 位。

gDQCOSY 谱, HMBC 谱和 NOESY 谱进一步证实了 I 的双键和各化学位移的归属, 并确定了 5-OH 的立体构型。在 gDQCOSY 谱中可看到 δ 5.97 的烯属质子信号与 2-H 质子 (δ 2.36) 相关, 而此质子又与 δ

2.76 (1-H) 信号相关, 表明 δ 5.97 为 3-H 质子, 由 HMBC 谱可观察到 3 位烯属质子 (δ 5.97) 与 C-1 (δ 45.22), C-2 (δ 26.00), C-4 (δ 141.18), C-12 (δ 58.85) 具相关峰; 5 位连氧氢质子 (δ 3.73) 与 C-3 (δ 118.07), C-4 (δ 141.18), C-6 (δ 209.67), C-7 (δ 49.32) 具相关峰; 同时还显示 5 位羟基质子 (δ 2.82) 与 C-12 (δ 58.85), 及 C-2 (δ 26.00) 之间具相关峰。gDQCOSY 谱及 HMBC 谱中还显示出其他质子的相关信号 (表 1)。

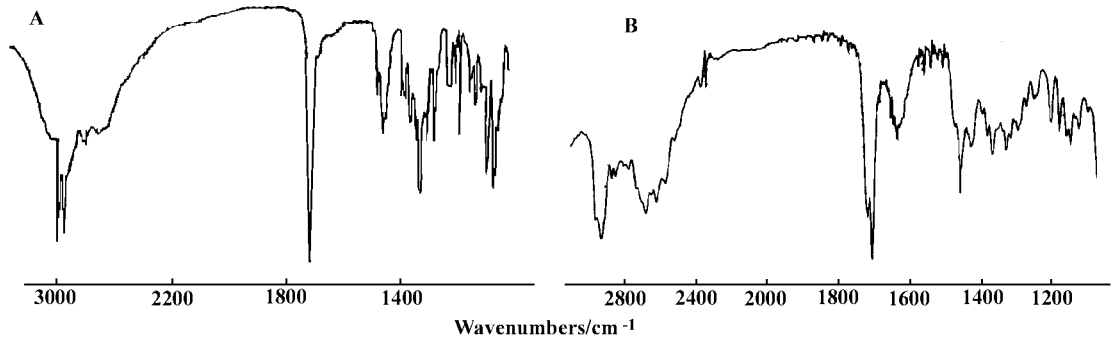


Figure 1 IR spectra of compound I (A) and I·HCl (B)

Table 1 NMR data of neohuperzine

No	¹³ C NMR	(DEPT)	¹ H NMR (J, Hz)	gDQCOSY	HMBC
1	45.22	(CH ₂)	2.74 (m)	2.36(2)	5.97(3), 2.63(9), 2.20(2), 3.05(13-OH)
2	26.00	(CH ₂)	2.36, 2.20 (m)	2.74(1)	2.74(1), 5.97(3)
3	118.07	(CH)	5.97 (t, 4)	2.20(2)	2.74(1), 3.73(5)
4	141.18	(C)			5.97(3), 3.73(5), 2.36(4)
5	80.70	(CH)	3.73 (s, >CH-OH)		1.31, 1.88(8)
6	209.67	(CH ₂)			3.73(5)
7	49.32	(CH)	2.94 (br. dd, 3, 11)	1.88(8)	3.73(5), 1.54(11)
8	46.25	(CH ₂)	1.31 (m) 1.88 (br. d, 9)	1.44(15) 1.44(15)	2.27(14), 1.44(15) 0.88(16)
9	48.22	(CH ₂)	3.00 (br. dd, 4, 13) 2.63 (br. d, 11)	1.65(10) 1.65(10)	1.65(10), 1.54(11)
10	22.84	(CH ₂)	1.65 (m)	1.54(11) 1.97(11)	2.63(9), 1.97, 1.54(11)
11	19.32	(CH ₂)	1.97 (br. d, 13) 1.54 (ddd, 5, 13)	1.65(10) 1.65(10)	2.63(9), 1.65(10) 3.73(5)
12	58.85	(C)			5.97(3), 2.27, 1.09(14) 1.54(11), 2.82(5-OH)
13	74.30	(C)			1.44(15), 1.97(11) 5.97(3), 3.73(5)
14	35.68	(CH ₂)	2.27 (br. d, 4) 1.09 (t, 12)	1.44(15) 1.44(15)	1.31, 1.88(8), 1.44(5) 0.88(16)
15	24.57	(CH)	1.44 (m)	1.31(8) 1.88(8) 2.27(14)	2.27(14), 1.31, 1.88(8) 0.88(16)
16	22.45	(CH ₃)	0.88 (d, 6)	1.44(15)	1.44(15), 1.31(8), 1.09(14)
OH			3.05 (br. s, 13-OH) 2.82 (br. d, 2, 5-OH)		

I 的五元环中 5-OH 的立体构型可由与其同碳的 5-H 与已知构型的 7-H α 的 NOESY 相关峰来确定^[12], 如果 5-H 同 7-H α 相关, 则为 5-H α , 否则为 5-H β 。NOESY 谱中显示, 位于 δ 3.73 的 5-H 与 δ 2.94 的 7-H α 相关, 由此表明 5-H 为 α 构型, 即 5-OH 为 β 构型, 至此确定了 I 为新的 fawcettimine 型生物碱, 其化学结构及跨环效应如图 2 所示。用 ¹H-¹³C COSY 谱进行 ¹H, ¹³C 信号归属, 与推定的结构相符。

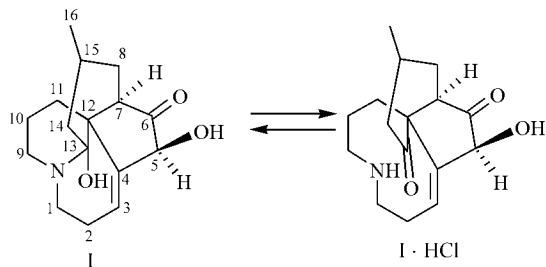


Figure 2 Structures of compound I and I·HCl

实验部分

熔点用 MP-53 型微量熔点测定器测定, 温度未校正。比旋度用 P-E243B 旋光计测定, 紫外光谱用岛津 UV-260 型分光光度计测定, 无水乙醇为溶剂。红外光谱用 Nicolet SDX 型仪测定, KBr 压片。核磁共振用 JNM-GX400 型及 1NOVA-600 型仪测定, CDCl₃ 为溶剂, TMS 为内标。质谱用 MAT-711 型仪测定。柱色谱和薄层色谱硅胶均为青岛海洋化工厂生产。

蛇足石杉购于福建 广东等地, 经本所马其云高级实验师鉴定, 标本存放于本所标本室。

1 提取分离

生药粗粉用 2% HCl 渗滤, 滤出液用阳离子交换树脂交换, 所得总碱以硅胶 (10 ~ 40 μ) 为固定相, EtOH-冰醋酸 (100: 7) 为流动相低压洗脱, 按色带接收, 分成 5 部份。取第 2 部份 (紫色带) 以 CHCl₃-MeOH (10: 6) 为洗脱剂, 用粗硅胶进行色谱分离, 按色带定性合并成 7 组份, 从第 6 组份中得到一单体, 以 CHCl₃-Me₂CO 重结晶, 得白色针晶 (I)。

2 结构鉴定

化合物 I 无色针状结晶 (CHCl₃-Me₂CO), mp 203 ~ 205 $^{\circ}$ C, [α]_D²² - 48.22 $^{\circ}$ (c, 0.1037, EtOH)。UVmax nm 201.8 (Log ϵ 3.70)。IR (KBr) cm⁻¹: 3 540 (s), 2 980 (s), 2 960 (s), 1 720 (s), 1 480 (w), 1 460 (m), 1 330 (m), 1 100 (m), 1 080 (m), 1 060 (m), 990 (m), 690 (m)。HREI-MS m/z (%): 277.1676 (M⁺,

C₁₆H₂₃NO₃, 31), (计算值, 277.1678), 261 (19), 260 (M⁺ - 17, 100), 248 (12), 246 (47), 230 (14), 218 (14), 214 (7), 204 (7), 192 (4), 176 (7), 150 (2), 149 (10), 123 (12), 122 (2)。¹H NMR, ¹³C NMR 及 H¹HCOSY 谱数据及归属见表 1。

盐酸盐的制备 取 I 20 mg 用无水乙醚溶解, 滴加盐酸乙醚溶液至酸性, 放置, 得无色针晶。mp 220 ~ 222 $^{\circ}$ C。IR (KBr) cm⁻¹: 3 560 (s), 3 540 (s), 3 460 (2), 3 390 (s), 2 980 (s), 2 720 ~ 2 600 (s), 1 720 (s), 1 705 (s), 1 640 (w-m), 1 470 (m), 1 080 (s), 1 060 (s), 990 (m), 730 (m)。

致谢: 旋光和质谱由本院仪器中心代测; 红外和紫外光谱由本所刘荫堂、全素琴分别代测。

REFERENCES:

- [1] Xu ZL, Chu BM, Luan XH, et al. Structural identification of fordine [J]. Med J PLA (解放军医学杂志), 1985, 10(4): 263 - 264.
- [2] Yuan SQ, Wei TT. Studies on the alkaloids of *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1988, 23(7): 516 - 520.
- [3] Yuan SQ, Zhao YM, Feng R. Studies on the alkaloids of *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev. (V) [J]. Bull Acad Mil Med Sci (军事医学科学院院刊), 2001, 25(1): 57 - 58.
- [4] Yuan SQ, Zhao YM, Yang ZS. Study on the trace alkaloids of *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1999, 30(增刊): 60 - 61.
- [5] Yuan SQ, Zhao YM. Studies on the alkaloids of *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev. (1 V) [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2000, 31(7): 498 - 499.
- [6] Tong SH, Xiang GQ. Studies on the alkaloids of *Phlegmarium fordii* (Baker) Ching [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 1984, 26(4): 411 - 415.
- [7] Luan XH, Xu ZL. Studies on the alkaloids of lycopodia from Lycopodiaceae [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1986, 21(5): 386 - 396.
- [8] Chu BM, Li J. Studies on alkaloids of *Phlegmarium fordii* (Baker) Ching [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1988, 23(2): 115 - 121.
- [9] Maclean DB. Lycopodium alkaloids [J]. The Alkaloids, 1985, 26: 241 - 296.
- [10] Ishii H, Yasui B, Harayama T, et al. Structure of fawcettidine: Transformation of serratinine into fawcettidine [J]. Tetrahedron Lett, 1966, 49: 2615 - 2619.
- [11] Inubushi Y, Ishii H, Harayama T, et al. Structure of fawcettimine correlation with serratinine [J]. Tetrahedron Lett, 1967, 12: 1069 - 1072.
- [12] Douglas B, Raffauf RF, Weisbach JA, et al. The alkaloids of *Lycopodium alopecuroides* [J]. Can J Chem, 1968, 46: 15 - 20.
- [13] Inubushi Y, Ishii H, Yasui B, et al. The structure of two

lycopodium alkaloids, lycothunine and lycophlegmarine and the configuration of C₃-C₄ bond of fawcettimine and fawcettidine [J]. *Chem Pharm Bull*, 1981, **29**(11) :3418 -

3421 .

[14] William AA, Gertrude CK. Some new lycopodium alkaloids [J]. *Can J Chem*, 1989, **67** :1077 - 1086 .

STRUCTURAL IDENTIFICATION OF NEOHUPERZININE

YUAN Shan qin¹, ZHAO Yi min¹, FENG Rui²

(1 . *Institute of Pharmacology and Toxicology*, 2 . *Instrumental Analysis Center*,
Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the alkaloid constituents of *Huperzia serrata* (Thunb.) Trev. **METHODS** Chromatographic methods were used for the isolation and purification. Structure was elucidated on the basis of chemical analysis and spectral data. **RESULTS** An alkaloid was isolated from *H. serrata* (Thunb.) Trev. **CONCLUSION** The compound is a novel faucettimine type alkaloid, named neohuperzine .

KEY WORDS: *Huperzia serrata*; neohuperzine; faucettimine type alkaloid